



(12) Ausschließungspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27.10.1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

(11) DD 285 094 A5

4(51) C 07 B 57/00
C 07 C 51/42
C 07 C 59/205

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) DD C 07 B / 329 754 6

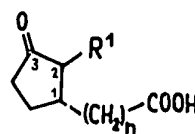
(22) 20.06.89

(44) 05.12.90

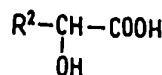
- (71) Akademie der Wissenschaften der DDR, Otto-Nuschke-Straße 22/23, Berlin, 1080, DD
 (72) Kramell, Robert, Dipl.-Chem.; Schneider, Gernot, Dr. sc. Dipl.-Chem.; Schmidt, Jürgen, Dr. Dipl.-Chem.; Sembdner, Günther, Prof. Dr. habil. Dipl.-Biol.; Schreiber, Klaus, Prof. Dr. habil. Dipl.-Chem., DD
 (73) Akademie der Wissenschaften der DDR, Institut für Biochemie der Pflanzen, Halle (Saale), 4050, DD
 (74) Akademie der Wissenschaften der DDR, Institut für Biochemie der Pflanzen, BfSR, Weinberg 3, Halle (Saale), 4050, DD

(54) Verfahren zur Enantiomerentrennung von 3-Oxo-cyclopentan-1-alkansäuren

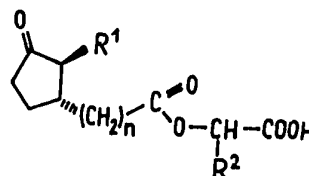
(55) Enantiomerentrennung;
3-Oxo-cyclopentan-1-alkansäuren; Hydroxycarbonsäure;
Mandelsäure; Jasmonsäure; Dihydrojasmonsäure
 (57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Trennung eines
Enantiomerengemisches von
3-Oxo-cyclopentan-1-alkansäuren der allgemeinen Formel I
durch Derivatisierung mit einer optisch aktiven
Hydroxycarbonsäure der allgemeinen Formel II. Nach
Trennung und anschließender Spaltung der
Diastereomeren der allgemeinen Formeln IIIa und IIIb
erhält man die Enantiomeren. Beispielsweise wird die
Enantiomerentrennung der Jasmonsäure (I;
R¹ = 2'(Z)-Pentenyl, n = 1) mit (R)-(-)-Mandelsäure oder
(S)-(+)-Mandelsäure (II; R² = Phenyl) durchgeführt.
Formeln I bis III



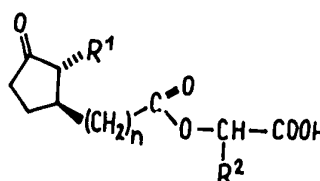
I



II



III a



III b

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Enantiomerentrennung von 3-Oxo-cyclopentan-1-alkansäuren der allgemeinen Formel I, **gekennzeichnet dadurch**, daß man das Enantiomerengemisch mit einer chiralen Hydroxycarbonsäure der allgemeinen Formel II derivatisiert, die erhaltenen Diastereomeren der allgemeinen Formeln III a und III b trennt und anschließend hydrolytisch zerlegt, wobei in den allgemeinen Formeln R^1 Pentyl, Pentenyl, Pentinyl, substituiertes Pentyl, substituiertes Pentenyl oder substituiertes Pentinyl, R^2 Alkyl oder Phenyl und $n = 1$ bis 7 bedeuten.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß man die 3-Oxo-cyclopentan-1-alkansäuren in aktivierter Form in Gegenwart eines tertiärenamins in einem aprotischen Lösungsmittel mit der chiralen Hydroxycarbonsäure umsetzt.
3. Verfahren nach Anspruch 2, **gekennzeichnet dadurch**, daß man als Lösungsmittel zyklische Ether einsetzt.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **gekennzeichnet dadurch**, daß man als chirale Hydroxycarbonsäure (R)-(-)-Mandelsäure oder (S)-(+)-Mandelsäure (II; $R^2 = \text{Phenyl}$) verwendet.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, **gekennzeichnet dadurch**, daß man die Enantiomerentrennung bei Jasmonsäure (I; $R^1 = 2'(Z)\text{-Pentenyl}$, $n = 1$) vornimmt.
6. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß man die Diastereomeren der allgemeinen Formeln III a und III b mit einer anorganischen Base hydrolytisch zerlegt.
7. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß man die Diastereomeren der allgemeinen Formeln III a und III b mit einer Mineralsäure hydrolytisch zerlegt.

Hierzu 1 Seite Formeln

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Enantiomerentrennung von 3-Oxo-cyclopentan-1-alkansäuren über Diastereomere. Optisch aktive 3-Oxo-cyclopentan-1-alkansäuren sind für die Erforschung physiologischer und biochemischer Prozesse der Pflanze und als potentielle Wachstumsregulatoren für die Landwirtschaft sowie als Duftkomponenten für Kosmetika von Bedeutung.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Für die Auftrennung eines Isomerengemisches der Jasmonsäure (I; $R^1 = 2'(Z)\text{-Pentenyl}$, $n = 1$) bzw. ihres Methylresters sind folgende Verfahren bekannt.

Die Auftrennung isomerer Jasmonsäure wurde durch Derivatisierung mit (S)-(-)-Borneol und chromatographische Trennung der diastereomeren Bornyl-derivate sowie anschließende hydrolytische Zerlegung der Diastereomeren erreicht (NISHIDA et al. Agric. Biol. Chem. 49, 769-772 [1985]).

Die Acetalisierung von racemischem Jasmonsäuremethylrestern mit dem chiralen Alkohol (2R, 3R)-(-)-Butandiol führte zu einem Diastereomerengemisch, dessen Trennung mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) und Zerlegung reine (1S, 2S)-(+)-Jasmonsäure und das (1R, 2R)-(-)-Enantiomere in einer optischen Reinheit von 81 bis 82%, bezogen auf den optischen Antipoden, lieferte (YAMANE et al. Agric. Biol. Chem. 45, 1709-1711 [1981]).

Ein wesentlicher Nachteil der aufgeführten Verfahren besteht in der aufwendigen Trennung der erhaltenen Diastereomerengemische, die trotz des Einsatzes moderner chromatographischer Verfahren wie der HPLC-Technik erst nach wiederholter Chromatographie gelingt und dennoch teilweise unvollständig ist.

Des Weiteren wurde (\pm)-Jasmonsäure mit einer (S)- oder (R)-Aminosäure derivatisiert, wobei die Trennung der Diastereomerengemische durch Chromatographie an Silikagel erfolgte (KRAMM et al. Tetrahedron 44, 5791-5807 [1988]). Die Derivatisierung racemischer Acetoxyjasmonsäure (I; $R^1 = 5'\text{-Acetoxy-pent-2'(Z)-enyl}$, $n = 1$) mit (S)-Phenylalaninmethylrestern lieferte ein Diastereomerengemisch, das mittels HPLC getrennt werden konnte (BOHLMANN et al. Tetrahedron 40, 2537-2540 [1984]).

Die nach den aufgeführten Verfahren erhaltenen Diastereomeren weisen eine stabile Amidbindung auf, so daß die zur Freisetzung der Enantiomere der 3-Oxo-cyclopentan-1-essigsäuren erforderliche Zerlegung der diastereomeren Derivate mit Problemen verbunden ist. Die Trennung von Enantiomerengemischen anderer 3-Oxo-cyclopentan-1-alkansäuren wurde noch nicht beschrieben.

Ziel der Erfindung

Es ist das Ziel der Erfindung, optisch aktive Vertreter vom Typ der 3-Oxo-cyclopentan-1-alkansäuren für die praktische Anwendung in der Landwirtschaft und in der kosmetischen Industrie sowie für die Wirkungsanalyse auf dem Gebiet der Forschung bereitzustellen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, optisch aktive 3-Oxo-cyclopentan-1-alkansäuren durch Auftrennung eines Enantiomergemisches über solche Diastereomeren zu gewinnen, die einfacher und effektiver zu trennen sind und anschließend unproblematisch zerlegt werden können.

Erfindungsgemäß wird das dadurch erreicht, daß man Enantiomergemische von 3-Oxo-cyclopentan-1-alkansäuren der allgemeinen Formel I mit einer chiralen Hydroxycarbonsäure der allgemeinen Formel II derivatisiert, die erhaltenen Diastereomeren der allgemeinen Formeln III a und III b trennt und anschließend hydrolytisch zerlegt. In den allgemeinen Formeln bedeuten R¹ Pentyl, Pentenyl, Pentinyl, substituiertes Pentyl, substituiertes Pentenyl oder substituiertes Pentinyl, wobei der Substituent beispielsweise eine Hydroxy- oder Acetoxygruppe sein kann, R² Alkyl oder Phenyl und n 1 bis 7. Für die Praxis von Interesse ist das erfindungsgemäße Verfahren beispielsweise für die Enantiomertrennung von Jasmonsäure (I; R¹ = 2'(Z)-Pentenyl, n = 1) oder Dihydrojasmonsäure (I; R¹ = n-Pentyl, n = 1).

Zur Darstellung der diastereomeren Derivate der allgemeinen Formeln III a und III b wird die Carboxygruppe der 3-Oxo-cyclopentan-1-alkansäuren aktiviert. Eine vorteilhafte Ausführung besteht in der Mischanhydrid-Methode, wobei die Reaktion mit einem Chlorkohlensäureester, bevorzugt Chlorameisensäureisobutylester, in Anwesenheit einer tertiären Base, beispielsweise Triethylamin, in einem aprotischen Lösungsmittel, wie Tetrahydrofuran, durchgeführt wird. Die Aktivierung erfolgt in der Kälte, im allgemeinen bei etwa -10°C. Das erhaltene gemischte Anhydrid wird ohne Isolierung zur Derivatisierung eingesetzt.

Erfindungsgemäß führt man die Derivatisierung der aktivierten 3-Oxo-cyclopentan-1-alkansäuren mit der chiralen Hydroxycarbonsäure der allgemeinen Formel II in einem aprotischen Lösungsmittel, beispielsweise in zyklischen Ethern, in Gegenwart eines tertiärenamins, vorzugsweise Triethylamin oder Tri-n-butylamin, durch. Dabei arbeitet man im allgemeinen bei Temperaturen zwischen 0°C und Raumtemperatur. Als Hydroxycarbonsäure der allgemeinen Formel II wird für das erfindungsgemäße Verfahren insbesondere (R)-(-)- oder (S)-(+)-Mandelsäure (II; R² = Phenyl) eingesetzt.

Die Diastereomeren der allgemeinen Formeln III a und III b enthalten eine freie, unsubstituierte Carboxygruppe, was besonders vorteilhaft für die chromatographische Trennung der Diastereomergemische ist. Die Diastereomeren III a und III b kann man sowohl mittels Umkehrphasen-HPLC als auch durch Normalphasenchromatographie an unmodifiziertem Silikagel trennen. Die hydrolytische Zerlegung der Diastereomeren der allgemeinen Formeln III a und III b führt man mit einer anorganischen Base, beispielsweise einem Alkalihydroxid, oder mit einer Mineralsäure, bevorzugt Salzsäure, durch. Dabei arbeitet man bei Raumtemperatur oder unter Erwärmen, beispielsweise auf 60°C. Die freigesetzten Enantiomeren von 3-Oxo-cyclopentan-1-alkansäuren der allgemeinen Formel I werden anschließend gereinigt, vorzugsweise durch Chromatographie oder Destillation. Die größte Bedeutung hat das erfindungsgemäße Verfahren für die Enantiomertrennung der Jasmonsäure (I; R¹ = 2'(Z)-Pentenyl, n = 1). Die einfachere Trennbarkeit der erfindungsgemäß hergestellten Diastereomeren stellt einen entscheidenden Vorteil gegenüber den bekannten Verfahren zur Racematspaltung der Jasmonsäure dar, die zur Trennung der Diastereomergemische den mehrmaligen Einsatz der HPLC-Technik erfordern. Die Säulenchromatographie der durch Derivatisierung von Jasmonsäure mit optisch aktiver Mandelsäure erhaltenen Diastereomeren III a und III b an unmodifiziertem Silikagel führt bereits im ersten Trennschritt zu einer starken Anreicherung der diastereomeren Derivate, so daß man nach einer zweiten Trennung reine Diastereomeren erhält. Bei Einsatz der HPLC-Methode können die Diastereomeren bereits durch einmalige Chromatographie getrennt werden. Ausgehend von (R)-(-)-Mandelsäure tritt das diastereomere Derivat der (1 R, 2 R)-(-)-Jasmonsäure (III b) in der Elutionsfolge vor dem Diastereomeren III a auf. Bei Einsatz von (S)-(+)-Mandelsäure weisen die Diastereomeren ein inverses Elutionsprofil auf, wobei das diastereomere Derivat der (1 S, 2 S)-(+)-Jasmonsäure (III a) vor dem Diastereomeren III b eluiert wird. Die erhaltenen Diastereomeren O-[(1 R, 2 R)-(-)-Jasmonoyl]-(-)-mandelsäure und O-[(1 S, 2 S)-(+)-Jasmonoyl]-(-)-mandelsäure kann man kristallisieren. Zur Freisetzung der Enantiomeren der Jasmonsäure hydrolysiert man die Diastereomeren III a bzw. III b beispielsweise mit 1 molarer Natronlauge oder 1 molarer Salzsäure 12 Stunden bei Raumtemperatur und erhält nach chromatographischer Reinigung (1 S, 2 S)-(+)-Jasmonsäure bzw. (1 R, 2 R)-(-)-Jasmonsäure. Die Erfindung wird nachfolgend durch Ausführungsbeispiele näher erläutert.

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

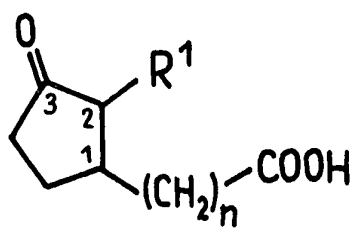
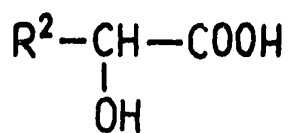
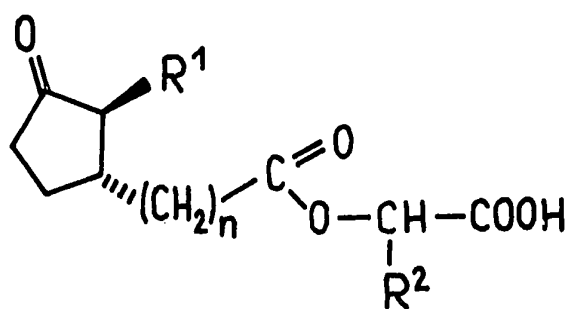
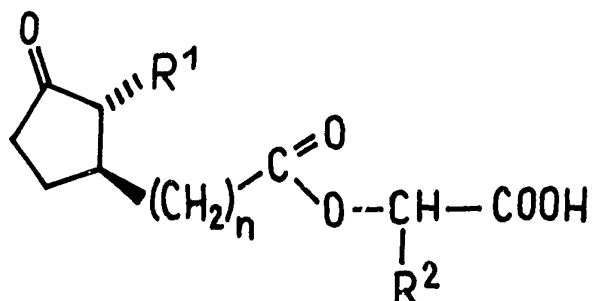
Trennung racemischer Jasmonsäure mit (R)-(-)-Mandelsäure

Eine Lösung von 630 mg (3 mmol) racemischer Jasmonsäure in 10 ml abs. Tetrahydrofuran wird bei etwa -10°C mit 0,42 ml Chlorameisensäureisobutylester und 0,45 ml Triethylamin versetzt. Nach 30 min filtriert man den Niederschlag ab, gibt das Filtrat bei 4°C zu 760 mg (5 mmol) (R)-(-)-Mandelsäure, gelöst in 10 ml abs. Tetrahydrofuran und 0,75 ml Triethylamin, und läßt 12 h bei Raumtemperatur rühren. Nach Einengen i. Vak. wird der Rückstand an Silikagel mit dem Eluenten A (n-Hexan/EtOAc/HOAc = 60/40/1 [v/v]) chromatographiert. Die mit dem jeweiligen Diastereomeren angereicherten Fraktionen werden mit dem Eluenten B (CHCl₃/EtOAc/HOAc = 180/20/3 [v/v]) rechromatographiert, wobei das Diastereomere III a (133 mg; [α]_D²⁴ -36,6°; Carbonyl-Cotton-Effekt a = +86,1 [c = 0,29, MeOH]) nach dem Diastereomeren III b (119 mg; [α]_D²² -141,1°; a = -69,6 [c = 0,21, MeOH]) eluiert. Das Diastereomere III b kristallisiert aus einem Chloroform/n-Hexan-Gemisch (Schmp. 125-128°C). Zur Freisetzung von (1 S, 2 S)-(+)-Jasmonsäure werden 100 mg des Diastereomeren III a (R¹ = 2'(Z)-Pentenyl) in MeOH gelöst und mit 1 N NaOH hydrolysiert. Anschließend wird mit verdünnter HCl angesäuert, mit Chloroform extrahiert und der Rückstand der organischen Phase zweimal an Silikagel mit den Eluenten A und C (CHCl₃/MeOH/H₂O = 140/20/1 [v/v]) chromatographiert. Unter diesen Bedingungen werden 33,2 mg (1 S, 2 S)-(+)-Jasmonsäure ([α]_D²⁵ +84,1°; a = +71,9 [c = 0,53, MeOH]) erhalten. Die unter analogen Bedingungen durchgeführte Zerlegung des Diastereomeren III b (R¹ = 2'(Z)-Pentenyl) liefert nach Chromatographie 35,5 mg (1 R, 2 R)-(-)-Jasmonsäure ([α]_D²³ -80,0°; a = -72,3 [c = 0,61, MeOH]).

Beispiel 2**Trennung racemischer Jasmonsäure mit (S)-(+)-Mandelsäure**

320 mg (1,5 mmol) (\pm)-Jasmonsäure werden in 5 ml abs. Tetrahydrofuran gelöst und mit 0,21 ml Chlorameisensäurebutylester in Gegenwart von 0,225 ml Triethylamin bei etwa -10°C aktiviert. Nach 30 min gibt man das Filtrat bei 4°C zu einer Lösung von 456 mg (3 mmol) (S)-(+)-Mandelsäure und 0,45 ml Triethylamin in 5 ml abs. Tetrahydrofuran und läßt 12 h rühren. Nach Einengen i. Vak. erfolgt die Trennung des Diastereomerengemisches mittels präparativer HPLC: Lichrosorb RP 18 ($7\ \mu\text{m}$, $10 \times 250\ \text{mm}$) Eluent: MeOH/0,2% HOAc = 65/35 (v/v), 4 ml/min, Detektion bei 230 nm, t_{R} (III a) = 23,5 min, t_{R} (III b) = 26,1 min; Jeweils injizierte Menge: max. 6 mg. In der Elutionsfolge tritt das Diastereomere III a ($108\ \text{mg}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +137,6^{\circ}$; $a = +72,0$ [c = 0,24, MeOH]) vor dem Diastereomeren III b ($89\ \text{mg}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +42,9^{\circ}$; $a = -89,9$ [c = 0,50, MeOH]) aus. Das Diastereomere III a kristallisiert aus einem Chloroform/n-Hexan-Gemisch (Schmp. $129-131^{\circ}\text{C}$).

Zur Freisetzung von (1S, 2S)-(+)-Jasmonsäure wird das Diastereomere III a (20 mg) mit 1 N Salzsäure 12 h hydrolysiert. Die Chromatographie des Chloroform-Extraktes an Sillkagel mit den Eluenten A und C liefert 12,6 mg des Enantiomeren ($[\alpha]_{\text{D}}^{25} +84,7^{\circ}$; $a = +76,9$ [c = 0,50, MeOH]). Die hydrolytische Zerlegung des Diastereomeren III b unter analogen Bedingungen führt zur Gewinnung von 11,0 mg (1R, 2R)-(-)-Jasmonsäure ($[\alpha]_{\text{D}}^{25} -81,4^{\circ}$; $a = -76,7$ [c = 0,44, MeOH]).

IIIIII aIII b